

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

CIÊNCIAS RURAIS - CAMPUS CURITIBANOS

Disciplina: CRC 7617 Projetos em Ciências Rurais - 2013.1

Professoras: Líliam Kelly Granemann e Mônica Aguiar dos Santos

Respostas de cultivares crioulas de milho a inoculação com bactérias
diazotróficas e adubação orgânica

MAGAIVER GINDRI PINHEIRO

CURITIBANOS

JUNHO – 2013

SUMÁRIO

1. Introdução.....	1
2. Justificativa.....	3
3. Revisão Bibliográfica.....	4
4. Objetivos.....	7
4.1. Objetivo Geral.....	7
4.2. Objetivos Específicos.....	7
5. Metodologia.....	8
5.1. Tratamentos e amostragens.....	8
5.2. Análise estatística.....	9
6. Resultado Esperado.....	10
7. Cronograma.....	11
8. Referências.....	12

RESUMO

A utilização de bactérias fixadoras de nitrogênio vem sendo amplamente pesquisada em espécies agrícolas leguminosas e gramíneas. Nos últimos anos, as tecnologias de inoculação vêm recebendo investimento crescente principalmente na cultura do milho. Por consequência, os benefícios de inoculantes comerciais estão sendo testados em diferentes cultivares e regiões do Brasil. O objetivo deste trabalho é avaliar o efeito da inoculação e da adubação orgânica em cultivares crioulas de milho. O experimento será conduzido na safra 2013/2014 em Curitiba – SC, em delineamento experimental em blocos casualizados em esquema fatorial 3x2x2, com 4 repetições. Serão testadas 3 variedades de milho (Catarina, Fortuna e Pixurum), 2 níveis de fertilizante (com e sem) e 2 níveis de inoculação (com e sem). Aos 90 DAE serão avaliadas altura da planta, altura de inserção da primeira espiga e diâmetro do colmo. Aos 120 dias será avaliada a produtividade. O uso de inoculante e adubo poderão ser recomendados para o aumento do crescimento das cultivares, otimizando a produção e minimizando custos.

Palavras-chaves: fixação biológica de nitrogênio, *Azospirillum*, milho crioulo.

1. INTRODUÇÃO

A produção de milho (*Zea mays* L.) é de suma importância e de grande valor econômico visto que trata-se de um cereal-base para a alimentação tanto de animais de produção quanto para humanos, além da utilização como matéria-prima de biocombustíveis. Todavia, esta produção é seguida de um consumo crescente e alto custo de sementes de cultivares híbridas e ou transgênicas de alta produtividade. Este fato, associado à resistência das pequenas propriedades aos transgênicos, muitas vezes faz os pequenos produtores, os quais predominam no estado de Santa Catarina, optarem por variedades crioulas fornecidas pelos sindicatos. Tendo em vista esta produtividade observada, juntamente com a utilização de cultivares crioulas, torna-se necessário o desenvolvimento de pesquisas para maximizar a produção e minimizar a utilização de fertilizantes nitrogenados, os quais são vitais para altas taxas de produtividade e responsáveis pelo alto custo de produção desta cultura. As projeções são de que, nos próximos anos, haverá um incremento substancial no uso de fertilizantes no Brasil para atender à intensificação da agricultura e à recuperação de áreas degradadas (HUNGRIA, 2011).

Com o intuito de reverter esta problemática, a utilização de bactérias fixadoras de nitrogênio (diazotróficas) vem sendo amplamente pesquisada. Salomone & Döbereiner (1996) estudando a resposta de vários genótipos de milho à inoculação de quatro estirpes de *Azospirillum* spp. isoladas na Argentina e três de raízes de sorgo e milho isoladas no Brasil, constataram aumento de peso de grãos, variando em diferentes genótipos, da ordem de 1.700 a 7.300 kg/há⁻¹. De acordo com dados da literatura, os ganhos em crescimento e produção são maioria em ensaios baseados em inoculação com estas bactérias, sendo o gênero *Azospirillum* uma delas.

A colonização de raízes e tecidos internos de plantas associado à capacidade de aproveitamento do nitrogênio gasoso (N₂), o qual não pode ser aproveitado por nenhum animal ou planta como nutriente, faz deste gênero de bactérias um grande aliado no que se refere a um aporte deste nutriente que é base de toda vida no planeta. Ainda que não tenha sido claramente evidenciada especificidade entre as plantas e as bactérias, há relatos indicando alguma afinidade com determinadas espécies (Penot et al., 1992), ou mesmo cultivares (Wani et al., 1985) de plantas.

A inoculação de sementes com produtos a base de microorganismos já é uma realidade, sendo a cultura da soja atualmente no Brasil totalmente independente de adubação nitrogenada devido à utilização de bactérias do gênero *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*, contudo em gramíneas como no caso do milho, produtos a base de *Azospirillum* dão apenas um aporte, mas que acarreta em diminuição dos adubos nitrogenados e consequente diminuição de custo. Portanto, observado este potencial, o intuito será utilizar da inoculação associado à adubação para um aumento de crescimento e posterior acréscimo de produtividade na cultura do milho.

2. JUSTIFICATIVA

A cultura do milho é dependente de altas doses de adubação nitrogenada, as quais são responsáveis por elevados custos de produção. Este fato, associado à utilização de cultivares crioulas pelos pequenos produtores de Santa Catarina, que possuem produtividade aquém da observada em variedades melhoradas ou transgênicas, será subsídio para se estudar os ganhos de crescimento e produtividade recorrentes da inoculação com bactérias diazotróficas.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A cultura do milho (*Zea mays* L.) possui diversas utilizações na alimentação humana, animal ou como biocombustível assumindo, portanto, um relevante papel sócio econômico (FANCELLI e DOURADO NETO, 2008). Entretanto, na moderna agricultura, para se alcançar rendimentos máximos nos cultivos de cereais, como o milho, são necessárias grandes quantidades de adubo, principalmente nitrogenados (CAVALLET et al. , 2000).

Na safra 2011/12 o Brasil tornou-se o terceiro produtor mundial de milho, ultrapassando a União Europeia. Esta posição do Brasil tende a permanecer, pois tanto a área e a produtividade nacional aumentam a cada ano. Entretanto, a área cultivada de milho no Estado de Santa Catarina vem decrescendo desde 2003, sendo que a menor queda foi na safra 2011/12 (2%). Contudo, como a produtividade diminuiu 15,7% a produção estadual apresentou um recuo de 17,5%. A microrregião de Curitiba – SC é responsável por 7,7% da concentração da produção de milho no estado fazendo desta a 4ª maior produtividade do estado (Instituto CEPA, 2012). Nesta microrregião predominam os pequenos produtores, os quais, devido a altos custos de sementes melhoradas e ou transgênicas muitas vezes optam por variedades crioulas fornecidas pelos sindicatos tais como Pixurum, Fortuna e Catarina. Tais cultivares não possuem alta produtividade em relação a sementes comerciais, porém ela pode ser aumentada principalmente através do acréscimo de macro nutrientes de alta demanda fisiológica, como por exemplo o nitrogênio. A adição de N pode ser feita com a incorporação de adubos nitrogenados orgânicos ou minerais tais como ureia ou amônia, que são as práticas adotadas pela maioria dos agricultores em Curitiba. Alternativamente, o N pode ser provido pelo processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN), o que na prática seria concretizado através do uso de inoculantes microbianos comerciais, ainda não difundidos na região em questão.

O processo de FBN é realizado por bactérias fixadoras de nitrogênio, que correspondem a um grupo de microrganismos benéficos às plantas devido à capacidade de colonizar a superfície das raízes, rizosfera, filosfera e tecidos internos das plantas (DAVISON, 1988; KLOEPPER et al., 1989).

O principal benefício destas bactérias é a capacidade de fixar nitrogênio, contudo benefícios secundários são atribuídos a estes microorganismos, pois estimulam o crescimento das plantas por diversas maneiras, sendo as mais relevantes: capacidade de fixação biológica de nitrogênio (Huergo et al., 2008); aumento na atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas (Cassán et al., 2008); produção de hormônios como auxinas, citocininas (Tien et al., 1979), giberilinas (Bottini et al., 1989), etileno (Strzelczyk et al., 1994) e uma variedade de outras moléculas (Perrig et al., 2007); solubilização de fosfato (Rodriguez et al., 2004); e por atuarem como agente de controle biológico de patógenos (CORREA et al., 2008).

Dentre as bactérias que possuem a capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico, destaca-se as espécies pertencentes ao grupo *Azospirillum*, que estabelecem simbiose com gramíneas, inclusive o milho. As bactérias do gênero *Azospirillum* ganharam grande destaque mundialmente a partir da década de 1970 (DÖBEREINER & DAY, 1976; DÖBEREINER et al., 1976). O gênero *Azospirillum* abrange um grupo de bactérias fixadoras de nitrogênio de vida livre que é encontrado em quase todos os lugares da terra; há relatos, também, de que as bactérias desse gênero podem ser endofíticas facultativas (DÖBEREINER & PEDROSA, 1987; HUERGO et al., 2008). Além do fato de fixarem o nitrogênio gasoso (N_2) graças à ação de enzima chamada dinitrogenase, que é capaz de romper a tripla ligação do N_2 e reduzi-lo a amônia, existem relatos literários confirmando que *Azospirillum* produz fitohormônios que estimulam o crescimento das raízes de diversas espécies de plantas (HUNGRIA, 2011).

Entretanto, é importante salientar que o processo de fixação biológica por essas bactérias consegue suprir apenas parcialmente as necessidades das plantas gramíneas, como no caso do milho (HUNGRIA, 2011). Por outro lado, a inoculação pode minimizar expressivamente os custos com adubação nitrogenada e refletir em aumento de produtividade. Em um levantamento realizado na Argentina com ensaios de inoculação no milho, 85% dos casos responderam positivamente, com um aumento médio na produtividade de 472 kg ha^{-1} (DÍAZ-ZORITA & FERNANDEZ CANIGIA 2008).

Tais bactérias já foram isoladas e são comercializadas na forma de inoculantes comerciais no Brasil desde 2008. Contudo, este produto com grande potencial no que se refere a aumento na produtividade na cultura do milho ainda não é conhecido pela maioria dos agricultores nem foi testado na região de Curitiba – SC.

4. OBJETIVOS

4.1. Geral

O objetivo deste trabalho será avaliar o efeito da inoculação com bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum* e a adubação com fertilizante orgânico no crescimento e na produtividade de três variedades crioulas de milho.

4.2. Específicos

- Avaliar altura da planta;
- Avaliar altura de inserção de primeira espiga;
- Avaliar diâmetro de colmo a 15cm do solo;
- Avaliar a produtividade de grãos em kg/ha.

5. METODOLOGIA

5.1. Tratamentos e amostragens

O experimento será conduzido na safra 2013/2014 no município de Curitiba – SC localizado entre as coordenadas geográficas de 27°16'44" de latitude Sul e 50°34'57" de longitude. A área a ser utilizada foi anteriormente destinada ao cultivo de feijão em sistema de plantio convencional por um período de sete anos rotacionando-se com culturas de inverno como aveia e azevém e eventualmente milho. O solo ocorrente na área experimental será submetido a análise química e granulométrica. O delineamento experimental será em blocos casualizados em esquema fatorial 3x2x2, com 4 repetições. Serão testadas 3 variedades de milho, 2 níveis de fertilizante (com e sem) e 2 níveis de inoculação (com e sem). As variedades de milho utilizadas serão Catarina, Fortuna e Pixurum, todas crioulas e fornecidas pelo Sindicato dos Trabalhadores Rurais de Curitiba. O fertilizante utilizado será Terraplant, a base de esterco e cama de aves com as seguintes concentrações: 1,0% de nitrogênio total, 20% de carbono orgânico, 25% de umidade, pH 7,5 e CTC 340,00 cmolc dm⁻³, aplicado na dose de 1,5Kg por linha. O inoculante utilizado será Azomax® a base de *Azospirillum brasilense* estirpes AbV5 e AbV6 contendo 2,0 x 10⁸ UFC/mL. A inoculação será feita na dose de 1,5mL por Kg de semente, efetuando-se a mistura em sacos plásticos e a secagem a sombra imediatamente antes da semeadura. As unidades experimentais consistirão em parcelas de 6x4m sendo utilizadas 4 linhas por parcela com espaçamento de 0,80m. O espaçamento entre parcelas consistirá de 0,80m e 1m entre blocos. A área delimitada do experimento virá a ser dessecada uma semana antes do plantio com Glifosato na concentração de 2L/ha. O plantio será efetuado com plantadeiras manuais e o raleio será feito três semanas após a semeadura, mantendo-se a quantidade aproximada de 5 plantas por metro linear. A coleta de dados será realizada aos 90 dias após a emergência considerando-se apenas as plantas das duas linhas centrais de cada parcela. Os dados de produtividade serão coletados 120 DAE. As variáveis a ser avaliadas serão: altura da planta, altura de inserção da primeira espiga e diâmetro do colmo a e produtividade. Para altura de plantas, serão medidas plantas com trena da altura do nível solo até o ponto da inserção da folha bandeira. Quanto ao diâmetro de colmo, utilizar-se-á de páquimetro para as

medições na altura de 15cm acima do nível solo. A variável altura de inserção a primeira espiga também será medida a partir de trena. E por fim, a coleta de produtividade ocorrerá a partir da coleta das espigas, secagem e pesagem dos grãos, extrapolando-se para grãos/ha.

5.2. Análise estatística

Os dados serão submetidos à análise de variância e posteriormente as médias serão comparadas utilizando-se do teste de Tukey a 5% de probabilidade com o auxílio do programa Assistat.

6. RESULTADO ESPERADO

Espera-se o efeito de interação entre adubo e inoculação para pelo menos uma das cultivares estudadas no aumento de crescimento e/ou produtividade.

Este resultado, caso observado, terá duas implicações principais: 1) Recomendar a prática da inoculação junto à adubação tradicional para os sindicatos e produtores, e 2) Diminuir custos de produção e a maximizar a produção Catarinense de milho, especificamente da microrregião de Curitibanos.

Associado a isto, o aumento de produtividade valorizará o pequeno produtor, além de incorporar um valor agregado ao produto.

7. CRONOGRAMA

Ações	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun
Reuniões com Sindicato	X							
Aquisição de materiais	X							
Coleta de solo para análise	X							
Demarcação da área experimental		X						
Plantio, inoculação e adubação		X						
Dessecagem da área experimental		X						
Coleta de dados					X	X		
Análise estatística ¹¹						X		
Revisão bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X
Redação de resumo/artigo científico						X	X	X

8. REFERÊNCIAS

- BOTTINI, R. et al. **Identification of gibberelins A1, A3, and iso-A3 in cultures of *A. lipoferum***. Plant Physiology, v.90, p.45-47, 1989.
- CAVALLET, L. E. et al. **Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Florestal, 4:130-131, 2000.
- CAMPOS, B. C.; THEISEN, S.; GNATTA, V. **Avaliação do inoculante “graminante” na cultura de milho.** Ciência Rural, 30:713-715, 2000.
- CASSÁN, F. et al. **Producción de fitohormonas por *Azospirillum* sp. Aspectos fisiológicos y tecnológicos de la promoción del crecimiento vegetal.** In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p.61-86.
- CORREA, O.S. et al. ***Azospirillum brasilense*-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities.** In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p.87-95.
- DAVISON, J. **Plant beneficial bacteria.** Bio/Technology, v.6, p.282- 286, 1988.
- DÍAZ-ZORITA, M.; FERNANDEZ CANIGIA, M.V. **Análisis de la producción de cereales inoculados con *Azospirillum brasilense* en la República Argentina.** In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p.155-166.
- DÖBEREINER, J.; PEDROSA, F.O. **Nitrogen-fixing bacteria in nonleguminous crop plants.** Science Tech, Springer Verlag, Madison, USA, 1987. p. 1-155. (Brock/Springer series in contemporary bioscience).

FANCELLI, L.A.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho**. Livrocere: Livraria e Editora Agropecuária Ltda, 2o Edição, 2008, 360p.

HUERGO, L.F. et al. **Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense***. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Asociación Argentina de Microbiología, Argentina, 2008. p.17-35.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina, Embrapa Soja, 2011. 36 p. (Circular Técnica / Embrapa Soja, ISSN 1516-781X; n.325)

Instituto CEPA. Síntese **Anual da Agricultura de Santa Catarina 2012**. Disponível em: <<http://cepa.epagri.sc.gov.br>>. Acesso: 16/04/2013.

KLOEPPER, J.W.; LIFSHITZ, R.; ZABLOTOWICZ, R.M. **Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity**. Trends in Biotechnology. v.7, p.39-43, 1989.

PENOT, I.; BERGES, N ; GUIGUENE, C.; FAGES, J. **Characterization of *Azospirillum* associated with maize (*Zea mays* L.) in France using biochemical tests and plasmid profiles**. Canadian Journal of Microbiology, v.38, p.798-803, 1992.

PERRIG, D. et al. **Plant growth promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and their implications for inoculant formulation** Applied Microbiology and Biotechnology, v.75, p.1143-1150, 2007.

RODRIGUEZ, H.; GONZALEZ, T.; GOIRE, I.; BASHAN, Y. **Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* spp**. Naturwissenschaften, v.91, p.552-555, 2004.

SALOMONE, G.; DÖBEREINER, J. **Maize genotypes effects on the response to *Azospirillum* inoculation**. Biology Fertilizer Soils, Oxford, v.21, p.193-196, 1996.

STRZELCZYK, E.; KAMPER, M.; LI, C. **Cytocinin-like-substances and ethylene production by *Azospirillum* in media with different carbon sources.**

Microbiological Research, v.149, p.55-60, 1994.

TIEN, T.M.; GASKINS, M.H.; HUBBELL, D.H. **Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.).** Applied and Environmental Microbiology, v.37, p.1016-1024, 1979.

WANI, S.P.; CHANDRAPALAIH, S.; DART, P.J. **Responses of pearl millet cultivars to inoculation with nitrogen-fixing bacteria.** Experimental Agriculture, v.21, p.175-182, 1985.